



Generate Collection

L1: Entry 1 of 2

File: JPAB

Mar 6, 2001

PUB-NO: JP02001058956A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 2001058956 A

TITLE: AUTOIMMUNE DISEASE-PREVENTING AND TREATING AGENT

PUBN-DATE: March 6, 2001

## INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

OKAMOTO, TADAO

KAGOTA, NARIYASU

## ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

WELFIDE CORP

APPL-NO: JP11232965

APPL-DATE: August 19, 1999

INT-CL (IPC): A61 K 39/395; A61 P 1/04; A61 P 17/06; A61 P 19/04; A61 P 25/28; A61 P 29/00; A61 P 37/00

## ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject preventing and treating agent useful for preventing and treating an autoimmune disease by incorporating a anti-CD19 antibody.

SOLUTION: This preventing and treating agent is obtained by incorporating an anti-CD19 antibody as an active ingredient. The autoimmune disease is an autoimmune disease associated with an autoreactive T cells, and is preferably psoriasis, Crohn disease, ulcerative colitis, multiple sclerosis, encephalomyelitis, chronic rheumatoid arthritis, polymyositis, dermatomyositis or chronic demyelinating polyradiculitis. It is preferable to remove an immunoglobulin aggregate which becomes a cause of anticomplementary action, from the anti-CD 19 antibody, and as the method for the removal, a polyethylene glycol treatment, a pH 4 treatment, an ion exchange resin treatment, etc., which give a non-chemically modified type immunoglobulin, are preferable. The amount of administration of the preparation is to administer 0.1-100 mg/day per 1 kg body weight intravenously as the immunoglobulin for 1 to several days every day.

COPYRIGHT: (C) 2001, JPO

## End of Result Set



Generate Collection

L1: Entry 2 of 2

File: DWPI

Mar 6, 2001

DERWENT-ACC-NO: 2001-263774

DERWENT-WEEK: 200127

COPYRIGHT 2002 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Agent useful for preventing or treating autoimmune diseases, e.g. Crohn's disease and encephalomyelitis, comprises anti-CD19 antibody

PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

YOSHITOMI PHARM IND KK

CODE

YOSH

PRIORITY-DATA: 1999JP-0232965 (August 19, 1999)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 2001058956 A	March 6, 2001		005	A61K039/395

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP2001058956A	August 19, 1999	1999JP-0232965	

INT-CL (IPC): A61 K 39/395; A61 P 1/04; A61 P 17/06; A61 P 19/04; A61 P 25/28; A61 P 29/00; A61 P 37/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP2001058956A

BASIC-ABSTRACT:

NOVELTY - Prevention of autoimmune disease comprises treating with an agent comprising anti-CD19 antibody.

ACTIVITY - Immunosuppressive; antipsoriatic; antiinflammatory; antiulcer; neuroprotective; antirheumatic; antiarthritic; antidiabetic; hemostatic; immunomodulator; dermatological.

No supporting biological data given.

MECHANISM OF ACTION - Autoreactive T cell modifier.

Autoimmune disease (encephalomyelitis) (EAE) was induced by intravenously administering pertussis toxin (200 ng) to female mouse of 8-15 weeks old for 2 days. Anti-CD19 antibody (200 micro g/day) (rat monoclonal antibody) was intravenously administered to the EAE infected mouse, for 5 days (from first day). The anti-CD19 antibody administered mouse (A) and a control mouse (B) (not administered with antibody) were evaluated for the degree of severity. The results showed that the degree of severity in mouse (A) was 5 at the initial stage and reduced to 0.5 on 15th day and to 0 on 20th day, and mouse (B) had 3.4 on 15th day which was reduced to 1.0 on 20th day. Thus, anti-CD19 antibody effectively inhibited EAE in mouse, and efficiently inhibited generation of autoimmune disease, by modifying autoreactive T cell and B cell.

USE - For preventing or treating autoimmune diseases, such as psoriasis, Crohn's disease, ulcerative colitis, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, multiple myositis and dermatomyositis, polyradiculitis (chronic inflammation, demyelination),

and encephalomyelitis (claimed), insulin dependent diabetes mellitus, idiopathic thrombocytopenic purpura, systemic lupus erythematosus, autoimmune hemolytic anemia, myasthenia gravis, Kawasaki disease, and habitual abortion.

ADVANTAGE - The agent effectively inhibits autoimmune disease, especially encephalomyelitis.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: AGENT USEFUL PREVENT TREAT DISEASE DISEASE ENCEPHALOMYELITIS COMPRISE ANTI ANTIBODY

DERWENT-CLASS: B04 D16

CPI-CODES: B04-G06; B14-C03; B14-C06; B14-C09B; B14-E08; B14-F01; B14-F03; B14-G01; B14-G02; B14-G02D; B14-J01; B14-N17C; B14-P03; B14-S04; D05-H11;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 \*01\*

Fragmentation Code

M423 M781 M905 P420 P421 P423 P433 P434 P440 P450

P520 P738 P816 P943 Q233

Specific Compounds

A00C8K A00C8T A00C8U

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C2001-079440

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-58956

(P2001-58956A)

(43) 公開日 平成13年3月6日 (2001.3.6)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード* (参考)
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 5
			G
			Y
A 6 1 P 1/04		A 6 1 P 1/04	
17/06		17/06	

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平11-232965	(71) 出願人	000006725 ウェルファイド株式会社 大阪府大阪市中央区平野町2丁目6番9号
(22) 出願日	平成11年8月19日 (1999.8.19)	(72) 発明者	岡元 忠雄 大阪府枚方市招提大谷2-25-1 吉富製 薬株式会社創薬研究所内
		(72) 発明者	竜田 成靖 大阪府枚方市招提大谷2-25-1 吉富製 薬株式会社創薬研究所内
		(74) 代理人	100080791 弁理士 高島 一
		Fターム(参考)	4C085 AA13 BB14 CC14 CC23 EE01 GG02

(54) 【発明の名称】 自己免疫疾患予防・治療剤

(57) 【要約】

【解決手段】 抗CD19抗体を有効成分として含有する自己免疫疾患予防・治療剤。

【効果】 抗CD19抗体は、T細胞が関与するあるいは自己抗体を産生するB細胞が関与する自己免疫疾患、特に好ましくは自己反応性T細胞が関与する自己免疫疾患の予防および治療に対して有用である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 抗CD19抗体を有効成分として含有する自己免疫疾患予防・治療剤。

【請求項2】 自己免疫疾患が自己反応性T細胞が関与する自己免疫疾患である請求項1記載の予防・治療剤。

【請求項3】 自己免疫疾患が、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、脳脊髄炎、慢性関節リウマチ、多発性筋炎・皮膚筋炎または慢性炎症性脱髄性多発性神経根炎である請求項1記載の予防・治療剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗CD19抗体の新規医薬用途に関する。即ち、本発明は新規な自己免疫疾患予防・治療剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】CD19は、B細胞に特異的に発現する分子量約95000の膜蛋白質の一種であり、抗原依存的、非依存的にB細胞の反応を制御するB細胞のシグナル伝達分子として重要であると考えられている。CD19はB細胞における抗体遺伝子再構成の早期から発現され、ヒトではB細胞の分化に伴って徐々に増加するが、マウスでは成熟B細胞に分化した時点で段階的に数倍に増加する。そして、CD19は形質細胞に分化すると消失する。また、骨髄中では未成熟B細胞のクローン除去に関与するシグナルを、CD19が増強する可能性が示唆されており、一方、未梢成熟B細胞においてはB細胞受容体からのシグナルを、CD19が増強する可能性が示唆されている。

【0003】抗CD19抗体とは、このB細胞の反応性制御分子であるCD19に対する抗体の総称である。既にモノクローナル抗体が報告されており、市販品もある。

【0004】抗CD19抗体がB細胞の活性化に関与すること、その誘導体が白血病、B細胞リンパ種に対して有用であることが知られている〔ジャーナル・オブ・イムノロジー、138巻9号、2793～2799頁（1987年）、WO93-36360公開公報等を参照〕。

【0005】一方、通常の免疫グロブリン（多数の健康人から採取、分離することができ、特定の抗体の存在を必要としない。主としてIgGクラスの免疫グロブリン）や、ある種の抗体（例えばCD4キメラ抗体等）等が自己免疫疾患に適用できることが報告されている〔特開平9-77684号公報、特表平6-509708号公報等を参照〕。しかし、抗CD19抗体と自己免疫疾患との関係については何ら報告はない。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、新規の自己免疫疾患予防・治療剤を提供することである。

## 【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記課題を達成するために、さらに研究を進めた結果、抗CD19抗体が自己免疫疾患の予防および治療に有用であることを見出して、本発明を完成した。即ち、本発明は、抗CD19抗体を有効成分とする自己免疫疾患予防・治療剤である。以下に本発明を詳細に説明する。

【0008】本発明において有効成分として含まれる抗CD19抗体は、CD19に対する抗体、すなわちCD19を抗原として認識できるものであればその由来等は特に限定されず、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体のいずれでもよく、好ましくは由来等は投与対象に応じて適宜選択される。ポリクローナル抗体としては抗血清、特異抗体等が例示される。

【0009】抗血清は、CD19で免疫した動物の血清（抗血清）を回収することにより調製することができる。特異抗体は、当該抗血清をさらに精製することにより調製することができる。さらに本発明においては抗血清中に含まれるポリクローナル抗体を高力価免疫グロブリン製剤として製することもできる。本発明において高力価免疫グロブリン製剤とは、特に抗CD19抗体の含有量を高めたものであって、例えば、出発原料として抗CD19抗体陽性の血漿を用いて、当該血漿を濃縮することによって調製することができる。

【0010】本発明においてはモノクローナル抗体もまた好適に含まれる。モノクローナル抗体は、CD19で免疫した動物の脾細胞とミエローマ細胞のような増殖性細胞とを細胞融合して調製したハイブリドーマ、当該脾細胞をEBウイルス等で形質転換して得られた形質転換体、あるいは抗CD19抗体遺伝子を導入して得られる当該抗CD19抗体産生細胞を培養することにより得ることができる。

【0011】また、抗CD19モノクローナル抗体は商業的に入手可能であり本発明で好適に使用され得る。例えば、ヒト由来のものとして、H1B19クローン、B43クローン（いずれもIgG1タイプ、ファーマシンジェン社）、BU12クローン（IgG1タイプ、アンセル社）等が挙げられる。

【0012】抗CD19抗体としてはキメラ抗体、ヒト化抗体あるいはヒト抗体なども例示される。キメラ抗体とはヒト由来以外の動物のモノクローナル抗体の可変領域とヒト由来抗体の定常領域とを組み合わせることにより調製することができる。具体的にはマウス等のげっ歯類由来のモノクローナル抗体の可変領域をヒト由来抗体の定常領域に組み込んだものが挙げられる。ヒト化抗体は、当該キメラ抗体のうち、可変領域の一部のアミノ酸配列のみを置換したものであり、ヒトが許容できるように、すなわち新たな抗原性を起こさないように工夫してある。具体的には抗原結合部位の遺伝子配列だけをヒト抗体遺伝子に移植して得られる抗体が挙げられる。ヒト抗体は、ヒトの抗体産生に関与する染色体を例えばマウ

スに導入することによって得られる特殊なトランスジェニック動物を用いて産生させたものである。これらは遺伝子工学的手法により調製することができる。

【0013】抗CD19抗体（ポリクローナル抗体ならびにモノクローナル抗体）を調製する際に免疫源として使用されるCD19は、ヒトCD19、霊長類由来のCD19、マウス由来のCD19等が挙げられるが、好ましくはヒトCD19が用いられる。より具体的には、ヒトCD19遺伝子（GenBank ヒトM28170）に基づいてヒトCD19蛋白質を調製する。

【0014】免疫する動物としては、ポリクローナル抗体あるいはモノクローナル抗体を作成するために通常分野で用いられる各種動物が好適に使用される。

【0015】本発明の自己免疫疾患予防・治療剤に含められる抗CD19抗体は、抗補体作用（補体結合性）の原因となる免疫グロブリン凝集体を除去しておくことが好ましい（特に抗CD19抗体の出発原料が血漿由来である場合には望ましい処置である）。

【0016】除去方法としては、ポリエチレングリコール処理、pH4処理、イオン交換樹脂処理等〔これらの処理により非化学修飾型の免疫グロブリン（抗CD19抗体）が得られる〕；アルキル化、スルホ化等の処理〔これらの処理により化学修飾型の免疫グロブリン（抗CD19抗体）が得られる〕；アラスミン、ペプシン、トリプシン等を用いた酵素処理等が挙げられるが、中でも非化学修飾型免疫グロブリンが得られるポリエチレングリコール処理、pH4処理、イオン交換樹脂処理等の処理が好ましい。

【0017】本発明において非化学修飾型の免疫グロブリンとは、生体内の抗体の分子構造により近い状態で、従って免疫グロブリンのフラグメントであるFab、F(ab')<sub>2</sub>、Fc等を含まないものである。化学修飾型の免疫グロブリンとしては、開裂させた抗体分子のS-S結合にアルキル基が導入されたもの（アルキル化）や開裂させた抗体分子のS-S結合にスルホ基（-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>）が導入されたもの（スルホ化）等が挙げられる。非化学修飾型の免疫グロブリンは、好ましくは、（1）抗体価の低下がなく、同時に抗体スペクトルの低下もない、（2）抗補体作用（補体結合性）が日本国生物学的製剤基準で安全と見なされる20単位（CH<sub>50</sub>値）よりも十分に低い、といった特徴を有する。

【0018】このような非化学修飾型の免疫グロブリンは、自然状態のもので、いかなる方法で得たものであってもよい。混在する可能性のある、ショックの原因となる免疫グロブリン凝集体は、酸性処理や界面活性剤処理等により除去することができる。製造上の複雑さや収量の低下を問題としないならば、非イオン系界面活性剤を用いてショックの原因となる免疫グロブリン凝集体を除去する方法がより好ましい。このような処理によって得られた免疫グロブリンは上述の非化学修飾型の免疫グロ

ブリンの諸性状を満たすものである。

【0019】より具体的には当該非化学修飾型の免疫グロブリンは公知の手法により調製することができる。例えば、エタノール分画、ポリエチレングリコール分画（特開昭53-47515号公報）、ポリエチレングリコールとヒドロキシエチルスターチの組み合わせによる分画（特開昭51-91321号公報）、酸処理（特開昭57-32228号公報）、陰イオン交換体処理（特表昭59-501546号公報、特開昭60-42336号公報）、加熱処理後のポリエチレングリコール分画（特開昭63-183539号公報）、液状製剤化（特開昭58-43914号公報、特開昭63-197274号公報）、多孔性膜処理（特開平10-265406号公報）、コロイド珪酸処理（特開平10-265407号公報）、ポリエチレングリコール分画上清を酸性pHで濃縮処理（特開平11-199511号公報）等に記載の方法が例示される。

【0020】ウイルス不活化のため、本発明の自己免疫疾患予防・治療剤は、特に有効成分として含める抗CD19抗体がヒトまたは動物の血液由来である場合には、その調製の工程のいずれかの段階で、当該抗体に加熱処理を施すことが好ましい。例えば、液状加熱方法としては、安定化剤として高濃度の糖または糖アルコールを用いる方法（特開昭61-191622号公報）、安定化剤として高濃度のソルビトールを用い、低イオン強度、酸性pHで行う方法（特開昭63-146832号公報）等が例示される。また、乾燥加熱方法としては、安定化剤としてアルブミン、グリシン、ポリエチレングリコール、塩化ナトリウム、マンニトール等を用いる方法（特開昭61-78730号公報）、安定化剤として二糖類、糖アルコールを用いる方法（特開昭62-228024号公報、特開昭63-283933号公報）、安定化剤としてアルブミンと二糖類または糖アルコールを併用する方法（特開昭62-289523号公報等）が例示される。

【0021】本発明の製剤は、経口的又は非経口的に投与される。投与形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、シロップ剤等の経口形態、溶液、乳剤、懸濁剤等の液状の注射剤等の非経口投与形態が例示される。

【0022】前記投与形態の製剤は、有効成分である抗CD19抗体に必要な応じて適宜の通常医薬品に用いられる薬理的に許容される担体、賦形剤、希釈剤や安定化剤等の製薬上必要な添加剤を配合し、常套手段で製剤化することにより製造できる。固体製剤とする場合は、添加剤、たとえば、ショ糖、乳糖、セルロース糖、D-マンニトール、マルチトール、デキストラン、デンプン類、寒天、アルギネート類、キチン類、キトサン類、バクチン類、トランガム類、アラビアゴム類、ゼラチン類、コラーゲン類、カゼイン、アルブミン、リン酸カルシウム、ソルビトール、グリシン、カルボキシメチルセ

ルコース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、グリセリン、ポリエチレングリコール、炭酸水素ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク等が用いられる。さらに、錠剤は必要に応じて通常の剤皮を施した錠剤、たとえば糖衣錠、腸溶性コーティング錠、フィルムコーティング錠あるいは二層錠、多層錠とすることができる。液体製剤とする場合、添加剤としては、グルコース等の単糖類、サッカロース、マルトース等の二糖類、マンニトール、ソルビトール等の糖アルコール、塩化ナトリウム等の中性塩、グリシン等のアミノ酸、アルブミン、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン共重合体（プルロニック）、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（トウイーン）等の非イオン系界面活性剤等が例示される。

【0023】注射剤とする場合は、無菌の水溶液、たとえば生理食塩水、等張液、油性液、たとえばゴマ油、大豆油が用いられる。また、必要により適当な懸濁化剤、たとえばカルボキシメチルセルロースナトリウム、非イオン性界面活性剤、溶解補助剤、たとえば安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等を併用してもよい。

【0024】注射剤の投与形態である本発明を製剤化するにあたり、除菌・滅菌等の無菌化工程を経ることが更に望ましい。

【0025】本発明の注射用製剤は、液状製剤の場合はそのまま、あるいは適当な溶媒（例えば注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖液等）で希釈し、乾燥製剤の場合は適当な溶媒（例えば注射用蒸留水等）に溶解して、静脈内、筋肉内、胸腔内、皮下、皮内等に投与され得る。

【0026】本発明製剤の投与経路は、通常注射であり、特に静脈内投与が好ましい。本発明製剤の投与量は、体重1kg当たり免疫グロブリンとして0.1~100mg/日程度を、1~数日間程度連日静脈内投与することが標準的であるが、症状、性別、体重等に応じて投与量を増減すればよい。

【0027】本発明において有効成分として含められる抗CD19抗体は、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症（MS）、脳脊髄炎、慢性関節リウマチ、多発性筋炎・皮膚筋炎、慢性炎症性脱髄性多発性神経根炎（CIDP）、インスリン依存性糖尿病、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、全身性エリテマトーデス（SLE）、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、川崎病、習慣性流産等の自己免疫疾患の予防および治療に有用である。特に、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症（MS）、脳脊髄炎、慢性関節リウマチ、多発性筋炎・皮膚筋炎、慢性炎症性脱髄性多発性神経根炎（CIDP）等の自己反応性T細胞が関与すると考えられている自己免疫疾患の予防および治療に有用である。

【0028】また、本発明の自己免疫疾患予防・治療剤は、中枢神経系の自己免疫疾患、特に脳脊髄炎に有用である。

【0029】

【実施例】本発明をより詳細に説明するために実施例及び実験例を挙げるが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

【0030】製剤例1

抗CD19抗体（ヒト由来）を生理食塩水または0.6%塩化ナトリウム、2%マンニトールおよび1%アルブミンを添加した0.02M酢酸緩衝液に5%濃度となるように溶解し、除菌・滅菌後に凍結乾燥し、静注用製剤を得る。

【0031】製剤例2

抗CD19抗体（ヒト由来）を注射用水で5%濃度となるように溶解し、酢酸ナトリウムでpHを約5.5に調整し、ソルビトールを5%となるように添加する。得られる溶液（伝導度約1mmho、8℃での換算時）を除菌・滅菌し、静注用液状製剤を得る。

【0032】製造例3

CD19を用いたELISA法により、ヒト血漿から抗CD19抗体陽性血漿を選別した。当該血漿から冷エタノール法により得たコーン画分II+III 100gに注射用水1Lを加え、さらにこの溶液100mL当たりソルビトール50gを添加し、pH5.5に調整した後、60℃で10時間加熱処理した。その後、pH5.5に調整した後、冷注射用水にて当該溶液を3倍に希釈し、pH5.5の条件下でポリエチレングリコール（平均分子量4,000）を終濃度が8w/v%となるように添加し、2℃で遠心分離し上清を得た。この上清をpH4に調整した後、分画分子量10万の限外濾過膜（ペリコン2バイオマックス、ミリポア社製）を用いて注射用水に対して溶液の濃縮を行なった。pH5~7に調整した当該溶液を注射用水で平衡化したDEAE-セファデックスを添加（溶液50mL当たり2mL）し、0~4℃の条件下で約1時間接触処理し、処理後に濾過することによりDEAE-セファデックスを除去して濾過液（免疫グロブリン含有溶液）を回収した。

【0033】この免疫グロブリン含有溶液を注射用水で5w/v%に調整し、酢酸ナトリウムでこの溶液のpHを5.0~6.0に調整し、さらにソルビトールを終濃度が5w/v%となるように添加した。この水溶液の伝導度は約1mmhoであった。

【0034】当該溶液を、細孔性/低A1性フィルター（ゼータプラスLA90、キュノ社製）および無水シリカを担持したフィルター（ゼータプラス・デリビド、キュノ社製）に通して非吸着画分を回収した。さらに、孔径0.2μmのメンブランフィルターによる滅菌・滅菌を行ない、多孔性中空糸モジュール（平均孔径35±2nm、膜面積0.001~1.0m<sup>2</sup>、中空糸内径330

±30 $\mu$ m、膜厚35±3.5 $\mu$ m、150層以上の多重層構造を有する、原料は銅アンモニア法再生セルロース、商品名はプラノバ35、旭化成社製)を用いて、濾過圧力0.2kgf/cm<sup>2</sup>で1~5時間の膜濾過処理(空気圧を用いたデッドエンド濾過法による)を行なった。冷却後に再度滅菌濾過を行ない、静注用製剤を調製した。

#### 【0035】実験例

実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE)は自己反応性T細胞により誘発されることが証明されており、代表的な自己免疫疾患のモデルである(ヨーロピアン・ジャーナル・オブ・イムノロジー、11号、195~199頁(1981年)、セル、78号、399~408頁(1994年)。この自己免疫疾患モデルを用いて、本発明の効果を調べた。

【0036】(1)マウスを用いて実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)モデルを次のように作成した。8~15週齢の(PL/J×SJL/J)F1雌性マウスを、合成ペプチド(ミエリン塩基性蛋白質のアミノ酸配列の1番目から11番目に相当するペプチドであるMBP<sub>Ac1-11</sub>;ヨーロピアン・ジャーナル・オブ・イムノロジー(上述))400 $\mu$ gとアジュバンド・コンプリートH37RA 400 $\mu$ gで免疫し、当日および2日\*

\*目に百日咳毒素200ngを静注することによりEAEを誘発した。

#### 【0037】(2)抗体の投与

抗マウスCD19抗体(ラットモノクローナル抗体、サザン・バイオテクノロジー・アソシエート社製)を、EAEを誘発したマウス(上記(1))に1日あたり200 $\mu$ g/1匹となるように当日から5日間連続して静脈内投与した。

#### 【0038】(3)効果の判定

EAEの重症度は、以下の6段階のスコアで評価した。

- 0: 正常
- 1: 尾の緊張低下
- 2: 軽い歩行異常
- 3: 明確な後肢脱力
- 4: 後肢対麻痺
- 5: 瀕死または死亡

抗CD19抗体の効果は、重症度スコア(平均値)の推移で判定した。実験開始15日目と20日目の結果を表1に示す。なお、15日目は対照群(抗体未投与群)において最も重症値を示した日である。

#### 【0039】

#### 【表1】

	例数	15日目	20日目
対照群(抗体未投与群)	5	3.4	1.0
抗体投与群	5	0.5	0.0

【0040】B細胞に特異的なモノクローナル抗体である抗マウスCD19抗体が、EAEに対して抑制効果を発揮することを示すことができた。CD19分子はB細胞の反応性制御分子(B cell response regulator)として位置づけられており、抗CD19抗体はB細胞の活性化状態を修飾することにより、自己反応性T細胞が関与する自己免疫疾患の発生を抑制したことが初めて示された。すなわち、抗CD19抗体は新規な作用機作を有する自己免疫疾患の予防・治療薬であることが判明した。\*

#### ※【0041】

【発明の効果】本発明によれば、抗CD19抗体は、T細胞が関与するあるいは自己抗体を産生するB細胞が関与する自己免疫疾患、特に好ましくは自己反応性T細胞が関与する自己免疫疾患の予防および治療に対して有用である。故に抗CD19抗体を有効成分として含有する本発明製剤は、優れた自己免疫疾患の予防・治療薬を臨床の場に提供することができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

A61P 19/04  
25/28  
29/00  
37/00

識別記号

101

FI

A61P 19/04  
25/28  
29/00  
37/00

テマコード(参考)

101